

El concepto de especie en Procariotas

R. Rosselló-Mora

Institut Mediterrani d'Estudis Avançats. (CSIC). C/ Miguel Marqués, 21. 07190. Esporles, Balears. España.

Introducción

Un momento clave en el fomento de los estudios de diversidad biológica en la biosfera fue sin duda la Convención de Río, y en especial el compromiso adquirido por casi 180 naciones para preservar el legado biológico presente en la tierra. Desde entonces ¿Biodiversidad? se ha convertido en un término de uso común no sólo por biólogos, sino por miembros de otros colectivos como políticos y periodistas. Por ello se ha prestado mucha atención a la diversidad biológica en ambientes naturales, y la política científica y conservacionista se rige por la calidad y características de los sistemas que se quieren preservar. No está claro el número absoluto de especies presentes en la biosfera, pero se especula que se acercaría a 10^7 , a pesar de que no hay razones suficientes para descartar el que se trate de 10^4 ó 10^{10} (Bull y Stach, 2004). Se calcula que anualmente se describen unas 13000 especies nuevas, y esta tasa se ha mantenido constante durante una o dos décadas; no obstante estas nuevas descripciones están sesgadas positivamente hacia los taxones de eucariotas más desconocidos como son por ejemplo algas y microartrópodos (Bull y Stach, 2004).

Sin embargo el panorama es muy diferente cuando se trata de describir procariotas, ya que éstos se encuentran en clara desventaja numérica frente a los valores que se barajan para eucariotas (**Tabla 1**). El número de especies de procariotas clasificadas no alcanza ni el 0,4% del total de especies descritas hasta la fecha y, además, el incremento de nuevas clasificaciones no es tampoco tan acelerado. Estas diferencias tienen sin duda alguna repercusiones tanto políticas como económicas en el trato de los dividendos, esfuerzos e interés en la preservación de especímenes y ecosistemas. De hecho, existe entre los microbiólogos la intención de suscitar también interés proteccionista hacia el legado genético de los Procariotas (Fuerst y Hugenholtz, 2000).

Tabla 1. Número total de especies descritas al final del siglo XX. Datos tomados de Bull y Stach (2004). Los valores mostrados son en miles de unidades.

Grupo	Descritas (x1000)	Porcentaje del total	Estimadas (x1000)
Plantas	270	15,4	300-500
Cordados	45	2,6	50-55
Artrópodos	1065	60,8	2375-101200
Moluscos	70	4	100-200
Nemátodos	25	1,5	100-1000
Protozoos	40	2,3	60-200
Algas	40	2,3	150-1000
Hongos	75	4,3	200-9900
Procariotas	4,9	0,3	50-3000
Virus	4	0,2	50-1000
Otros	115	6,6	200-800
Total	1753	100	3635-111655

Los procariotas, que tradicionalmente se han llamado bacterias, son el grupo taxonómico que engloba a todos los organismos anucleados de la biosfera, que generalmente son microscópicos y nunca forman tejidos diferenciados. La aplicación de la biología molecular, y por tanto el análisis comparativo de genes para reconstruir genealogías, dió un vuelco importante en la concepción del cómo se podría relacionar toda la diversidad presente en la biosfera de una forma natural (Woese et al., 1990). De hecho, mediante la reconstrucción filogenética de la subunidad pequeña del RNA ribosómico se postula que toda la vida celular conocida podría circunscribirse en tres dominios: *Eukarya*, *Archaea* y *Bacteria*. Si aceptamos que esta reconstrucción recapitula la filogenia del organismo que la alberga, los procariotas forman dos de los tres dominios de seres vivos celulares conocidos hasta la fecha (**Fig. 1**). Además, los procariotas del dominio *Archaea* tendrían un origen filogenético común con *Eukarya* y distinto de *Bacteria*, observación que no es compartida y sí fuertemente criticada por alguno de los taxónomos de más renombre (Mayr, 1998). Sin embargo, atendiendo a esta reconstrucción, Procariota se debe considerar como un taxón parafilético, ya que dentro de esta categoría no se incluyen a los eucariotas por razones biológicamente obvias.

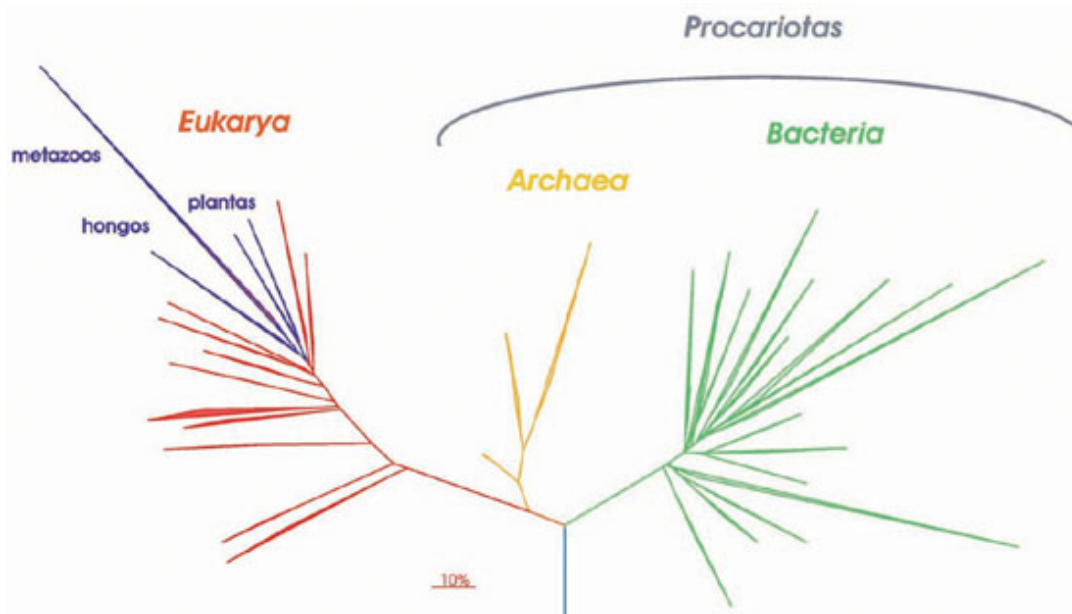


Figura 1. Reconstrucción filogenética basada en el análisis comparativo de la secuencia del gen que codifica para la subunidad pequeña del RNA ribosómico.

Plantas, animales y hongos se corresponden en estos momentos con aproximadamente un 85% de las especies clasificadas y por tanto se considera este valor como un reflejo de la diversidad global aún por explorar (**Tabla 1**). Sin embargo, si atendemos a la diversidad de genes de RNA ribosómico conocidos, así como a la abundancia de procariotas en la biosfera (Whitman et al., 1998), es muy probable que los valores de diversidad biológica sean mucho más favorables para éstos. Esta suposición se ve reflejada en la **Figura 1**, donde unas pocas ramas filogenéticas (marcadas en azul) concentran el mayor número de especies clasificadas y ello puede que sea fruto de un sesgo en la capacidad científica e interés en su clasificación. Sin embargo, si tenemos en cuenta que cada artrópodo tiene al menos un procariota simbiote generalmente coespeciándose, el número de especies de procariotas sería como mínimo idéntico al de artrópodos. Como veremos, esta desventaja numérica de los procariotas frente a los eucariotas no es en ningún caso debida a una baja diversidad, si no que por sus características esenciales tanto genéticas como estructurales y metabólicas, el reconocimiento de una especie es una labor mucho más complicada y económicamente más cara que para un eucariota. De hecho, se calcula que en la biosfera existen entre $4-6 \times 10^{30}$ células procariotas y que éstas conformarían aproximadamente el 50% de su biomasa protoplasmática viva (Whitman et al., 1998). En estos cálculos se considera también que el 90% de la diversidad procariótica se encuentra albergada en el subsuelo de la corteza terrestre, y que sólo el 10% de ésta se desarrolla en la biosfera superficial (aguas, sedimentos, aire, suelos?), que es la que más se ha investigado. Barajando estos números se calcula que el total de especies procarióticas podría oscilar entre 10^7 y 10^{18} , valores que sin duda sobrepasarían el total de especies de eucariotas. Las diferencias en órdenes de magnitud del posible número total de especies de procariotas en la biosfera son básicamente debidas a diferencias en la interpretación de lo que puede ser una especie. Y es que la idea de especie está circunscrita por parámetros muy diferentes a los que se usan para eucariotas superiores.

El concepto de especie en Procariotas

La idea de lo que es una especie procariota ha ido evolucionando en paralelo con el desarrollo tecnológico aplicado a la microbiología, y su concepto resulta de una valoración empírica de lo que pudiera ser una unidad (Rosselló-Mora y Amann, 2001). Las primeras clasificaciones serias de procariotas se realizaron a finales del siglo XIX, siguiendo criterios parecidos a los usados para clasificar eucariotas. De hecho todo el esquema taxonómico jerarquizado así como el código de nomenclatura se adoptó a partir del establecido por Linneo para plantas y posteriormente animales, y así continúa en nuestros días. Sin embargo, las primeras clasificaciones resultaron ser muy inestables debido a que la poca información que se podía extraer de la observación de los microorganismos no era suficiente para garantizar su reconocimiento. La diversidad morfológica y estructural de los procariotas es muy pobre, y la simple observación de un individuo no proporciona ningún tipo de información útil. Se tuvo que esperar a la mejora de las herramientas de estudio genético y bioquímico para poder obtener un volumen de información suficiente para la discriminación entre distintos grupos de individuos, y así ser clasificados como especies nuevas. Los dos acontecimientos más importantes en el establecimiento de un concepto de especie que potenció estabilidad en el esquema de clasificación fueron el conocimiento del DNA como molécula informativa y el desarrollo de mecanismos de computación que permitieran la manipulación de un buen número de parámetros simultáneamente. El análisis numérico de múltiples caracteres biológicos aplicados a la clasificación se conoce como taxonomía numérica, y si además éste se basa en una independencia, igualdad de peso y covariabilidad de los caracteres en estudio, se conoce como fenética (Sneath and Sokal, 1973). Ambos aspectos, el genómico y el fenético han tenido una influencia básica en el cómo se concibe una especie procariota aún hoy.

La unidad básica en taxonomía de procariotas se ajusta al concepto que denominamos filo-fenético (Rosselló-Mora y Amann, 2001), y entiende una especie como una categoría que circunscribe a un grupo de cepas de origen monofilético y que se muestran coherentes tanto desde el punto de vista genómico como fenotípico, y que por ello se pueden distinguir de otros grupos semejantes. La descripción puede aparentar ser un poco indefinida, sin embargo los microbiólogos tenemos métodos objetivos de medida que nos pueden mostrar la coherencia de una determinada especie. A partir de la reconstrucción filogenética basada en el análisis de la secuencia del RNA ribosómico 16S (por ejemplo, **Figura 1**), podemos reconocer si un grupo de organismos es monofilético o no. A partir de ahí, y mediante técnicas de hibridación DNA-DNA entre genomas (**Fig. 2**) podemos reconocer el grado de similitud que estos presentan. En general los valores se expresan en porcentajes referidos a un organismo de referencia. Se considera coherencia genómica cuando un grupo de organismos se circunscribe en torno a un 50-70% o más. Finalmente, la coherencia fenotípica se evalúa mediante el análisis de múltiples caracteres, tanto estructurales como metabólicos, que en general son cuantificados fenéticamente para observar el grado de similitud intraespecífico. Sin embargo, la premisa más importante en la clasificación de una especie nueva es que ésta posea una ? propiedad fenotípica discriminante?, o sea que se deben encontrar una serie de caracteres fenotípicos que en su conjunto sean únicos de la especie y por tanto nos permitan identificar nuevos aislados como miembros de ésta (Wayne et al., 1987; Stackebrandt et al., 2002).

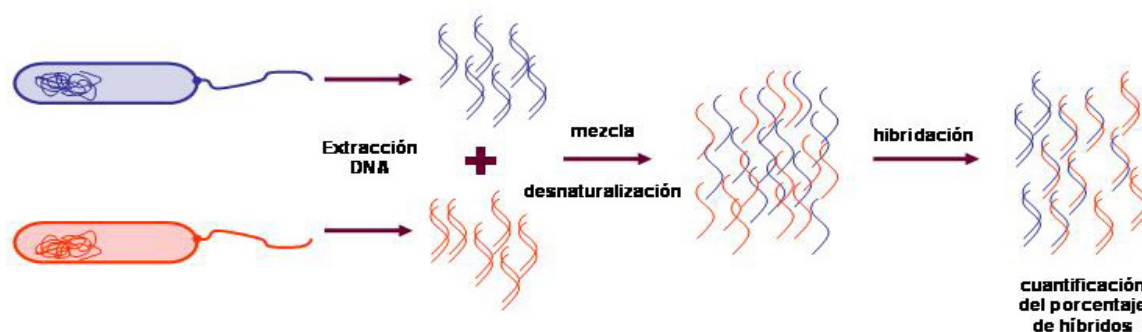


Figura 2. Esquema del procedimiento para cuantificar el grado de similitud entre genomas. En este caso se mide el porcentaje de híbridos formados cuando dos genomas distintos desnaturalizados se mezclan y se dejan hibridar bajo condiciones controladas. El porcentaje de similitud nos indica el grado de coherencia genómica entre dos organismos.

Claro está que para poder realizar todas estas determinaciones uno debe necesariamente poder cultivar los microorganismos en el laboratorio para generar suficiente biomasa para su experimentación. Además, debido a las características de los ensayos, solamente se pueden realizar estudios sobre microorganismos que están en cultivo puro. Ambos aspectos, el que

sean cultivables y además puros son los dos mayores impedimentos en la descripción de nuevas especies. De hecho se calcula que menos del 1% del total de procariotas existentes se podrían cultivar con los métodos hoy disponibles (Bull y Stach, 2004). Si a ambos impedimentos le añadimos que el número de métodos (filogenéticos, genéticos y bioquímicos) que se deben utilizar es elevado, y el tiempo de experimentación largo, la descripción de una nueva especie es una tarea más compleja y cara que la de por ejemplo, la clasificación de artrópodos basada fundamentalmente en aspectos morfológicos. Todo ello, junto a la relativa juventud de la microbiología como ciencia explicaría el porqué de la desventaja numérica frente a lo observado en taxonomía de eucariotas.

Se ha intentado simplificar el reconocimiento de nuevas especies mediante el análisis de parámetros únicos como es la secuencia del RNA ribosómico 16S (Amann et al., 1992). Sin embargo, la presión evolutiva que se ejerce sobre esta molécula hace que la tasa de mutación sea relativamente baja y por ello carezca de suficiente poder de resolución para discriminar especies de forma efectiva (Rosselló-Mora y Amann, 2001). Aparentemente serviría para discriminar géneros (Ludwig et al., 1998). A pesar de ello, el rRNA 16S se utiliza como molécula indicativa de diversidad procariótica en ambientes naturales mediante estudios independientes del cultivo en el laboratorio (Amann et al., 1995). Las diferentes secuencias que se obtienen en librerías génicas de muestras naturales, o las abundancias de células individuales visualizadas mediante el uso de sondas filogenéticas fluorescentes dirigidas a los ribosomas (**Fig. 3**), son buenas estimaciones de la diversidad natural no cultivada. Se trataría entonces de una medida un tanto conservadora en el cálculo de especies, pero es la medida más objetiva de la que se dispone hoy para evaluar estructura de comunidades microbianas en ambientes naturales.

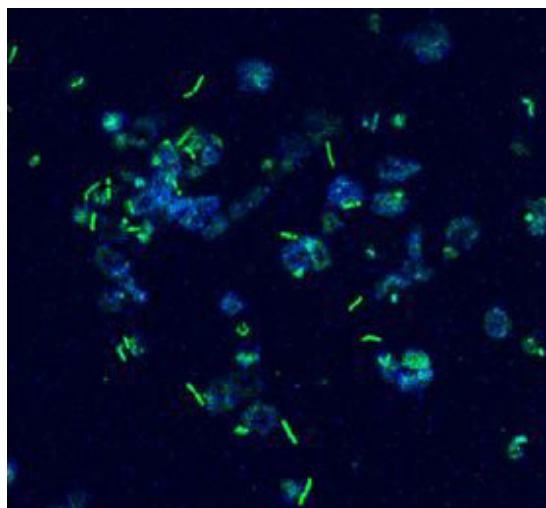


Figura 3. Hibridación in situ con sondas fluorescentes (FISH). Mediante el uso de sondas fluorescentes dirigidas contra los ribosomas, y específicas para taxones concretos se puede identificar la abundancia y morfología de éstos. El uso de sondas filogenéticas nos permite estudiar la estructura de las comunidades microbianas sin necesidad de cultivarlas en el laboratorio. En este caso observamos en verde *Salinibacter ruber* y en azul una haloarchaea en una muestra de salmuera de salinas solares.

¿Son comparables las especies de procariotas con las de eucariotas?

La mayor parte de los taxónomos microbianos reconocen que el actual concepto de especie, a pesar de no ser el ideal, ha contribuido de forma importante en la construcción de un sistema de clasificación estable, operativo y predictivo. Sin embargo, también hay una corriente científica que lo critica por no ser comparable con el de eucariotas superiores (Rosselló-Mora, 2003). El hecho de que aquellos parámetros aparentemente adecuados para definir especies de animales y plantas (o sea la sexualidad y fertilidad) no se cumplan en procariotas debido a que su reproducción es asexual, hace que ambos conceptos sean diferentes ya en su base. Sin embargo, y al contrario de lo que creen los microbiólogos críticos, esta dificultad en reconciliar conceptos no es solamente un problema radicado entre procariotas y animales o plantas, sino que entre las distintas taxonomías de eucariotas también existe una incapacidad de llegar a un consenso (Hull, 1997). De hecho, la mayoría de los más de 22 conceptos formulados para circunscribir especies de eucariotas (Mayden, 1997) se han ideado en función de las características observables de los organismos en estudio (Mishler y Donoghue, 1982), y el concepto biológico de especie ideado por Mayr (Mayr, 1942) es aplicable especialmente a animales, pero cuando el nivel de complejidad disminuye este concepto pasa a ser inadecuado (Hull, 1997).

Tal y como explican los antropólogos estructuralistas, las clasificaciones aparecen por una necesidad de la mente humana para entender y usar los componentes de la naturaleza para su propio beneficio (Lévi-Strauss, 1978). Especie es una categoría diseñada para circunscribir los patrones de recurrencia que se observan en la naturaleza (Hey, 2001). De hecho es una construcción artificial, circunscrita por un concepto que el hombre intenta ajustar a las unidades que observa en la naturaleza en forma de patrones de recurrencia. Éstos van a ser necesariamente diferentes para grupos de organismos que muestran distintos grados de complejidad morfológica y/o fisiológica (Hey, 2001). Muy probablemente estas especies descritas tomando como base distintos criterios y correspondientes a diferentes grupos de organismos no sean comparables. Estos aspectos han sido ampliamente discutidos entre filósofos y taxónomos de eucariotas, que proponen que o bien todas las taxonomías adoptan un único concepto, lo que reduciría la precisión en la circunscripción; o bien se acepta que existe una diversidad de conceptos, cada uno de ellos legitimado por su propósito y que pueden no ser comparables (Hull, 1997; Mishler y Donoghue, 1982). La primera postura se considera monismo, mientras que la segunda y más popular entre filósofos se considera pluralismo (Ereshefsky, 1998; Hull, 1997).

En el marco de las taxonomías de eucariotas, se ha discutido cuál de los numerosos conceptos formulados podría servir como concepto universal y por tanto aplicable a cualquier grupo de organismos (Hull, 1997; Mayden, 1997). Si todas las taxonomías adoptaran un mismo concepto, entonces todas las especies serían comparables, y lo mismo ocurriría con las especulaciones sobre su diversidad. Se barajan básicamente dos conceptos de uso primario en todos los seres vivos: el concepto fenético de especie (PhSC; Hull, 1997) que entiende a las especies como grupos de organismos simplemente definidos por el grado de similitud interna basado en el análisis de múltiples caracteres, todos ellos igualmente sopesados y covariables (o sea que se permite libertad en que un determinado carácter esté presente o ausente en un individuo); y el concepto evolutivo de especie (ESC; Mayden, 1997) que entiende a las especies como grupos de individuos que mantienen su identidad a través del tiempo y el espacio, y que disponen de una trayectoria evolutiva y tendencias históricas propias. La mayor diferencia entre ambos conceptos universales es su carga teórica: mientras que el primero se puede considerar como casi neutro en su base teórica, el segundo es probablemente el más comprometido desde el punto de vista teórico de entre los formulados hasta la fecha (Hull, 1997). Desde el punto de vista purista, el ESC sería el más adecuado debido a que tiene en cuenta aquellas fuerzas evolutivas que provocan cohesión entre organismos y que sería responsable de la existencia de unidades naturales, pero sin embargo, cuanto más teórico es un concepto más difícil es su aplicación (Hull, 1997). El mayor problema en la aplicación del ESC en procariotas es que aún hoy no se puede hablar de evolución al no tener un registro fósil útil que nos permita especular sobre sus trayectorias históricas, y por ello sólo el PhSC sería el único considerable como universal (Rosselló-Mora, 2003). De hecho, el concepto de especie en procariotas tiene una base fenética clara además de ser mejorado por aspectos de similitud genómica y relaciones genealógicas. Sin duda alguna, si se quiere llegar a una unidad taxonómica que sea comparable para todos los grupos de seres vivos, se debería de adoptar el PhSC. Sin embargo, éste, que sólo se está parcialmente aplicando a procariotas y virus, es dudoso que convenciera a botánicos y zoólogos, por lo que habrá que aceptar pluralismo en la descripción de la diversidad global (Rosselló-Mora, 2003).

El problema de la homonimia

Además de las dificultades en encontrar un concepto que se ajuste a todos los grupos de organismos vivos, existe un problema importante que hace que durante décadas taxónomos, filósofos, ecólogos y evolucionistas se encuentren enzarzados en una discusión redundante que difícilmente tenga solución (Ereshefsky, 1998). Este problema radica básicamente en que distintas disciplinas adoptan un concepto diferente para describir sus unidades básicas, pero le dan un mismo nombre, el de especie (Hey, 2001). Se trata de un claro caso de homonimia (Reydon, 2004) cuya solución pasaría en primer lugar por admitir pluralismo, y en segundo lugar por el renombrar cada unidad de forma diferente como por ejemplo ?bioespecies?, ?eco-especies?, ?filoespecies? (Ereshefsky, 1998), dejando el término de ?especie? para aquella clasificación general, que mantiene la nomenclatura binomial y que se rige por principios pragmáticos (Reydon, 2004). Esta misma discusión se puede trasladar al ámbito de la microbiología; cada científico cree haber hallado la descripción ideal de lo que debe ser una especie, sin embargo éstas están especialmente diseñadas para describir las unidades que mejor se ajustan a sus modelos de estudio: unidades evolutivas o unidades ecológicamente relevantes. Sin embargo, y teniendo en cuenta que la evolución se infirió a partir de la clasificación y no viceversa (Sneath, 1988), el término ?especie? como idea sería ?propiedad? de la taxonomía. Sin embargo, admitir esto no va a ser tarea fácil.

Pragmatismo

En procariotas se ha adaptado un concepto de especie pragmático. Para muchos se considera demasiado conservador debido a que mediante la definición se agrupan núcleos de organismos que tal vez podrían ser considerados como especies independientes. Sin embargo, el reconocimiento de una especie mediante los parámetros hoy vigentes que nos muestran coherencia genómica, filogenética y fenotípica es una tarea relativamente sencilla y objetiva. Sin duda, se podría mejorar y reducir el tamaño de lo que sería una especie, pero dada la diversidad que se espera basándonos en los criterios vigentes, permitir una definición más restrictiva aumentaría en órdenes de magnitud el número de especies esperadas, y dificultaría la operatividad y aplicabilidad del sistema taxonómico.

Referencias

- Amann, R., Lin, C., Key, R., Montgomery, L., y Stahl, D.A. 1992. Diversity among fibrobacter isolates: towards a phylogenetic classification. *Systematic and Applied Microbiology*. 15:23-31
- Amann, R., Ludwig, W., y Schleifer, K.-H. 1995. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiological Reviews*. 59:143-169
- Bull, A.T. y Stach, J.E.M. 2004. An overview of biodiversity ? estimating the scale. En *Microbial diversity and bioprospecting* (ed. Bull, A.T.), pp. 15-28. ASM Press, Washington, D.C.
- Ereshefsky, M. 1998. Species pluralism and anti-realism. *Philosophy of Science* 65:103-120
- Fuerst, J.A. y Hugenholtz P. 2000. Microorganisms should be high on DNA preservation list. *Science*. 290:1503
- Hey, J. 2001. Genes, categories and species. Oxford University Press Inc. New York
- Hull, D.L. 1997 The ideal species concept-and why we can't get it. En *Species: the units of biodiversity* (eds Claridge, M.F., Dawah, H.A., Wilson, M.R.), pp 357-380. Chapman & Hall, London
- Lévi-Strauss, C. 1978. Myth and meaning. Routledge Classics, reprinted 2002. Great Britain.
- Ludwig, W., Strunk, O., Klugbauer, S., Klugbauer, N., Weizenegger, M., Neumaier, J., Bachleitner, M., y Schleifer, K.-H. 1998. Bacterial phylogeny based on comparative sequence analysis. *Electrophoresis*. 19:554-568
- Mayden, R.L. 1997. A hierarchy of species concepts: the denouement in the saga of the species problem. En *Species: the units of biodiversity* (eds Claridge, M.F., Dawah, H.A., Wilson, M.R.), pp 381-324. Chapman & Hall, London
- Mayr, E. 1942. Systematics and the origin of species from the viewpoint of a zoologist. Columbia University Press, New York.
- Mayr, E. 1998. Two empires or three? *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 95:9720-9723
- Mishler, B.D., Donoghue, M.J. 1982. Species concepts: a case for pluralism. *Systematic Zoology*. 31:491-503
- Reydon, T.A.C. 2004. Why does the species problem still persist?. *Bioessays*. 26:300-305
- Rosselló-Mora, R. 2003. The species problem, can we achieve a universal concept?. *Systematic and Applied Microbiology*. 26:323-326
- Rosselló-Mora, R., Amann, R. 2001 The species concept for prokaryotes. *FEMS Microbiological Reviews*. 25:39-67
- Sneath, P.H.A. 1988. The phenetic and cladistic approaches. En *Prospects in Systematics* (ed Hawksworth, D.L.), pp. 252-273. Systematics Association, Clarendon Press, Oxford
- Sneath, P.H.A., and Sokal, R.R. 1973. Numerical Taxonomy. W.H. Freeman & Co., San Francisco, California.
- Stackebrandt, E., Frederiksen, W., Garrity, G., Grimont, P.A.D., Kämpfer, P., Maiden, M.C.J., Nesme, X., Rosselló-Mora, R., Swings, J., Trüper, H.G., Vauterin, L., Ward, A.C., Whitman, W.B. 2002. Report of the ad hoc committee for the re-evaluation of the species definition in bacteriology. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 52:1043-1047
- Wayne, L.G., Brenner, D.J., Colwell, R.R., Grimont, P.A.D., Kandler, O., Krichevsky, M.I., Moore, L.H., Moore, W.E.C., Murray, R.G.E., Stackebrandt, E., Starr, M.P., Trüper, H.G. 1987. Report of the ad hoc committee on reconciliation of approaches to bacterial systematics. *International Journal of Systematic Bacteriology* 37:463-464
- Woese, C.R., Kandler, O., y Wheelis, M.L. 1990. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eukarya. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 87:4576-4579